

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-251144

(43)Date of publication of application : 22.09.1998

(51)Int.Cl.

A61K 31/19
A61K 31/19
A61K 31/19
A61K 31/19
A61K 31/19
A61K 31/19
A61K 31/195
A61K 31/44
A61K 31/55
A61K 31/695
// C07D243/38

(21)Application number : 09-056248

(71)Applicant : IYAKU BUNSHI SEKKEI KENKYUSHO:KK

(22)Date of filing : 11.03.1997

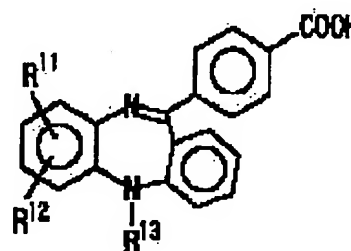
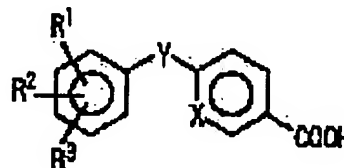
(72)Inventor : KAGECHIKA HIROYUKI
SHUDO KOICHI

(54) INTERLEUKIN-6 PRODUCTION INHIBITOR

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject inhibitor having an interleukin-6 production- inhibitory action and useful for prevention and/or treatment of diseases involved in excessive production of interleukin-6, by including a specific retinoid compound.

SOLUTION: This inhibitor is prepared by formulating (A) a compound or its salt selected from a compound shown by formula I (R₁-R₃ are each H, a 1-6C alkyl group, a silyl group substituted by three 1-6C alkyl groups, OH, etc., R₁-R₃ being not H at the same time; Y is NHCO, CONH, COCH=CH, etc.; X is CH, N) and a compound shown by formula II (R₁₁ and R₁₂ are each H, a 1-6C alkyl group, etc., R₁₁ and R₁₂ being not H at the same time; R₁₃ is H, a 1-6C alkyl group) [e.g. 4-[(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-2- naphthalenyl)carbamoyl]benzoic acid] and (B) a vehicle, disintegrating agent, binder, lubricant, coating agent, coloring matter, diluent, base, solubilizing agent, pH adjuster, stabilizer, or the like, if necessary.



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-251144

(43) 公開日 平成10年(1998) 9月22日

(51) Int.Cl.⁶

識別記号

F I

A 6 1 K 31/19

AED

A 6 1 K 31/19

AED

ABX

ABX

ACD

ACD

ACJ

ACJ

ADU

ADU

審査請求 未請求 請求項の数4 OL (全 9 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願平9-56248

(22) 出願日

平成9年(1997) 3月11日

特許法第30条第1項適用申請有り 1997年2月13日発行
の「Vol. 231, No. 2, 1997 BIOCHEMI
CAL AND BIOPHYSICAL RESEA
RCH COMMUNICATIONS」に発表

(71) 出願人 597051148

株式会社医薬分子設計研究所

東京都文京区本郷5丁目24番5号 角川本
郷ビル4F

(72) 発明者 影近 弘之

東京都練馬区大泉2-39-6

(72) 発明者 首藤 紘一

東京都杉並区下高井戸5-9-18

(74) 代理人 弁理士 今村 正純 (外2名)

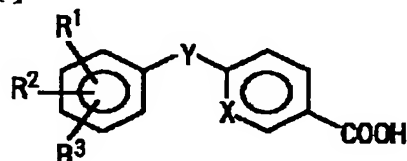
(54) 【発明の名称】 インターロイキン-6 産生阻害剤

(57) 【要約】

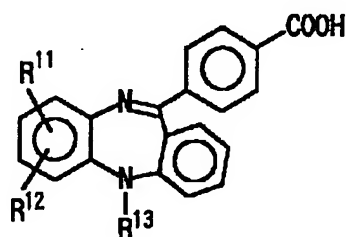
【課題】 インターロイキン-6(IL-6)の産生過多に関連
する疾患の予防・治療に有用なIL-6産生阻害剤を提供す
る。

【解決手段】 式(I) (R¹、R²、及びR³は H、C₁₋₆ アルキ
ル基などを示し、これらは互いに結合して5又は6員環
を形成してもよく；Y は-NH-CO-、-CO-NH-などを示し；
X はCH又は Nを示す) で表される化合物；又は式(II) (R¹¹
及びR¹² は H、C₁₋₆ アルキル基を示し、これらは互い
に結合して5又は6員環を形成してもよく；R¹³ は H、
C₁₋₆ アルキル基を示す) で表される化合物を含むインタ
ーロイキン-6の産生阻害剤。

【化1】



(I)

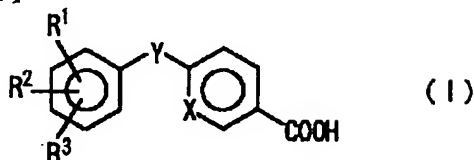


(II)

【特許請求の範囲】

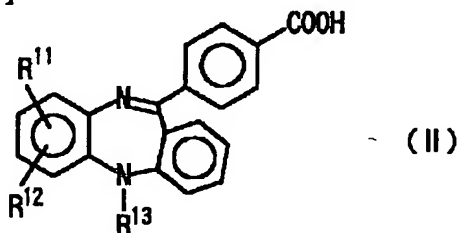
【請求項1】 下記の一般式(I):

【化1】



(式中、R¹、R²、及びR³はそれぞれ独立に水素原子、C₁₋₆アルキル基、3個の独立のC₁₋₆アルキル基で置換されたシリル基、C₁₋₆アルコキシ基、水酸基、又は置換基を有することもあるアダマンチル基を示すが、R¹、R²、及びR³が同時に水素原子であることはなく、R¹、R²、及びR³から選ばれる2つの隣接した基は互いに結合して、それらが結合するフェニル基上の2個の炭素原子とともに5又は6員環(該5又は6員環は1個又は2個以上のC₁₋₆アルキル基で置換されていてもよい)を形成してもよく; Yは-NH-CO-、-CO-NH-、-CO-CH=CH-、CO-CH=C(OH)-、及び-C(CH₃)=CH-からなる群から選ばれる二価の基を示し; XはCH又はNを示す)で表される化合物; 又は、下記の一般式(II):

【化2】



(式中、R¹¹及びR¹²はそれぞれ独立に水素原子又はC₁₋₆アルキル基を示すが、R¹¹及びR¹²が同時に水素原子であることはなく、R¹¹及びR¹²が隣接する場合にはそれらは互いに結合して、それらが結合するフェニル基上の2個の炭素原子とともに5又は6員環(該5又は6員環は1個又は2個以上のC₁₋₆アルキル基で置換されていてもよい)を形成してもよく; R¹³は水素原子又はC₁₋₆アルキル基を示す)で表される化合物からなる群から選ばれる化合物または生理学的に許容されるその塩を有効成分として含むインターロイキン-6の産生阻害剤。

【請求項2】 インターロイキン-1によって誘導されるインターロイキン-6の産生を抑制する請求項1に記載の阻害剤。

【請求項3】 4-[(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-2-naphthalenyl)carbamoyl]benzoic acidを含む請求項1または2に記載の阻害剤。

【請求項4】 IL-6の産生過多に関連する疾患の予防及び/又は治療に用いる請求項1ないし3のいずれか1項に記載の阻害剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明はインターロイキン-6産生阻害剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】インターロイキン-6(以下、本明細書中で「IL-6」と略す場合がある)は、幾つかの腫瘍細胞株の他、B細胞、T細胞、単球、並びに線維芽細胞等の多様な細胞によって産生される多機能性サイトカインである(Kishimoto, T., Blood, 74, pp.1-10, 1989; Akira, S. et al. The FASEB J., 4, pp.2860-2867, 1990)。IL-6は、免疫系、造血、急性期反応、及び神経系において幅広い生物学的作用を有しており、その異常発現は幾つかの疾患と関連付けられている(Kishimoto, T., Blood, 74, pp.1-10, 1989; Akira, S. et al., The FASEB J., 4, pp.2860-2867, 1990; Sehgal, P.B., Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 195, pp.183-191, 1990)。

【0003】例えば、慢性的丘疹鱗状皮膚疾患である乾癬の患者の皮膚生検ではIL-6レベルが上昇しており、IL-6は乾癬性ケラチン生成細胞で産生され、培養細胞中でその増殖を刺激する(Grossman, R.M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, pp.6367-6371, 1989)。また、IL-6は骨髄腫及びプラズマ細胞腫細胞における生長因子であり、ヒト骨髄腫細胞の増殖を刺激する(Kawano, M. et al., Nature, 332, pp.83-85, 1988; Klein, B. et al., Blood, 73, pp.517-526, 1989)。さらに、急性リウマチ性関節炎の患者の関節からの滑液には高レベルのIL-6が報告されている(Hirno, T. et al., Eur. J. Immunol., 18, pp.1797-1801, 1988)。

【0004】インターロイキン-1(IL-1)、腫瘍壊死因子(TNF)、血小板由来増殖因子(PDGF)、リポポリサッカライド、及びホルボールエステルのような多様なIL-6産生刺激物質が知られている(Sehgal, P.B. et al. 編, Ann. N.Y. Acad. Sci. 557, pp.1-580, 1989; Elias, J.A. et al., J. Immunol., 145, pp.161-166, 1990; Spangelo, B. et al., Endocrinology, 128, pp.2685-2692, 1991; Lieberman, A.P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, pp.6348-6352, 1989; Benveniste, E.N. et al., J. Neuroimmunol., 30, pp.201-212, 1990; Grimaldi, M. et al., J. Neurochem., 64, pp.1945-1953, 1995)。

【0005】IL-6産生の主要な阻害剤としてはステロイドホルモンが知られているにすぎない(Ray, A. et al., Mol. Cell. Biol., 10, pp.5736-5746, 1990)。糖質コルチコイド及びエストロゲンによる調節は転写レベルに機能しており、それらに特異的な核受容体に媒介されている(Ray, A. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, pp.6701-6705, 1991; Ray, A. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, pp.752-756, 1994; Scheinman, R.I. et al., Mol. Cell. Biol., 15, pp.943-953, 1995; Scheinman, R.I. et al., Science, 270, 283-28

6, 1995; Auphan, N. et al., Science, 270, pp.286-290, 1995; Ray, A. et al., J. Biol. Chem., 269, pp.12940-12946, 1994; Stein, B. et al., Mol. Cell. Biol. 15, pp.4971-4979, 1995)。

【0006】一方、レチノイン酸(ビタミンA酸)はビタミンAの活性代謝産物であり、発生途上にある未熟な細胞を特有な機能を有する成熟細胞へと分化させる作用や、細胞の増殖促進作用や生命維持作用などの極めて重要な生理作用を有している。これまでに合成された種々のビタミンA誘導体、例えば、特開昭61-22047号公報や特開昭61-76440号公報記載の安息香酸誘導体、及びジャーナル・オブ・メディシナル・ケミストリー (Journal of Medicinal Chemistry, 1988, Vol. 31, No.11, p.2182)に記載の化合物なども、同様な生理作用を有することが明らかにされている。レチノイン酸及びレチノイン酸様の生物活性を有する上記化合物は「レチノイド」と総称されている。

【0007】オール・トランス(all-trans)・レチノイン酸は、細胞核内に存在する核内レセプター・スーパーファミリー (Evans, R.M., Science, 240, p.889, 1988) に属するレチノイン酸レセプター (RAR)にリガンドとして結合して、動物細胞の増殖・分化あるいは細胞死などを制御することが明らかにされている(Petkovich, M., et al., Nature, 330, pp.444-450, 1987)。レチノイン酸様の生物活性を有する化合物(例えば、4-[(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-2-naphthalenyl)carbamoyl]benzoic acid: Am80など)も、複数知られている。RARに選択的に結合し、特定のRARを活性化することによって特定の遺伝子の転写を調節することができることが示唆されている(Hashimoto, Y., Cell struct. Funct., 16, pp.113-123, 1991; Hashimoto, Y., et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 166, pp.1300-1307, 1990; Sporn, M.B. et al.編, The Retinoids, 2nd ed., Raven Press, New York, 1994)。

【0008】レチノイン酸をはじめとするレチノイドはレチノイン酸レセプター (RAR)に結合し、RARを活性化することによって生物活性を発現させることが知られており(Cheng, Y.C. et al., Biochem. Pharmacol. 22, 3099-3108, 1973)、構造的には1又は2個の中程度の疎水性アルキル基の存在が受容体結合及び活性化には必要であることが示唆されている。レチノイドのうち Am80はサブタイプ選択性を示し、RAR α 及び β には結合するが RAR γ には結合しないことが知られている(Jetten, A.M. et al., Cancer Res., 47, pp.3523-3527, 1987; Takagi, K. et al., J. Cancer Res. Clin. Oncol., 114, pp.221-224, 1988)。

【0009】レチノイド化合物は、臨床的には、ビタミンA欠乏症、上皮組織の角化症、遅延型アレルギー、骨疾患、及び白血病やある種の癌の治療や予防に有用であることが見出されている。例えば、エトレチネート (et

retinate) や Am80などのレチノイド化合物を増殖性皮膚疾患の治療に用いる試みがなされている (Ellis, C. N. et al., J. Am. Acad. Dermatol., 16, 267, 1987; Ishibashi, Y., Rinsho Iyaku, 11, pp.733-746, 1995)。

【0010】最近、レチノイン酸 (all-trans-retinoic acid)がヒト肺の線維芽細胞において IL-1により誘導される IL-6 産生を阻害することが報告され (Zitnik, R. J., et al. J. Immunol., 152, pp.1419-1427, 1994)、レチノイン酸が IL-6 関連疾患の治療に有用である可能性が示唆された。しかしながら、レチノイン酸による IL-6 産生の抑制メカニズムはほとんど解明されておらず、種々の可能性を示唆する報告が混在している。例えば、IL-6産生におけるレチノイン酸の作用は細胞の型に依存するとの報告があり (Zitnik, R.J. et al., J. Immunol., 152, pp.1419-1427, 1994)、レチノイン酸は一時的トランスフェクション HeLa 細胞においてヒト IL-6 促進因子に対する刺激作用を示すとの報告もある (Chen, J.-Y. et al., The EMBO J., 14, pp.1187-1197, 1995)。

【0011】また、レチノイン酸レセプターに対する親和性と IL-6 産生阻害作用との関係については、レノイン酸の類似物質であるレチノール、レチナール、及び9-cis-レチノイン酸は IL-6生産の調節には同程度の活性を有するが、レチノイド核受容体に対する親和力はそれぞれ大幅に異なっていることが知られている。したがって、レチノイド核受容体に対して選択的な親和性を示すレチノイド化合物が、一般的に IL-6 産生阻害作用を有するとはいえない。

【0012】このようなレチノイドに対して拮抗的に作用し、上記レチノイドの代表的な作用(例えば、ヒト白血病細胞に対する分化促進作用)を減弱する化合物が知られている(Eyrolles, L., et al., Journal of Medicinal Chemistry, 37(10), pp.1508-1517, 1994)。この刊行物には、例えば、4-(5H-7,8,9,10-テトラヒドロ-5,7,7,10,10-ペンタメチルベンゾ[e]ナフト[2,3-b][1,4]ジアゼピン-13-イル)安息香酸などの化合物がレチノイドのアンタゴニストとして作用することが開示されている。

【0013】

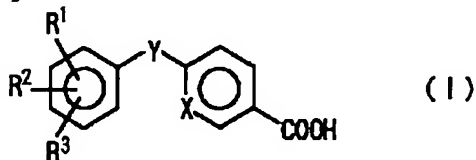
【発明が解決しようとする課題】本発明の課題は、IL-6 産生阻害作用を有する物質を提供することにある。また、本発明の別の課題は、IL-6の産生過多に関連する各種の疾患の予防及び/又は治療に有用な医薬を提供することにある。

【0014】本発明者は上記の課題を解決すべく鋭意努力した結果、4-[(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-2-naphthalenyl)carbamoyl]benzoic acid (Am80)などのレチノイド化合物が IL-6 産生阻害作用を有していること、並びに、これらの物質が IL-6 産生過多に関

連する疾患の予防及び／又は治療のための医薬の有効成分として有用であることを見いだした。

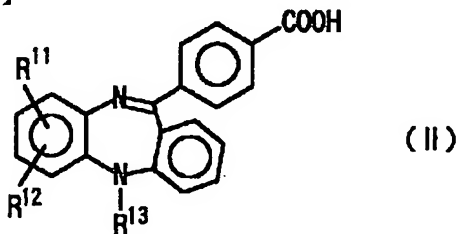
【0015】すなわち本発明は、下記の一般式(I)：

【化3】



(式中、R¹、R²、及びR³はそれぞれ独立に水素原子、C₁₋₆アルキル基、3個の独立のC₁₋₆アルキル基で置換されたシリル基、C₁₋₆アルコキシ基、水酸基、又は置換基を有することもあるアダマンチル基を示すが、R¹、R²、及びR³が同時に水素原子であることはなく、R¹、R²、及びR³から選ばれる2つの隣接した基は互いに結合して、それらが結合するフェニル基上の2個の炭素原子とともに5又は6員環(該5又は6員環は1個又は2個以上のC₁₋₆アルキル基で置換されていてもよい)を形成してもよく；Yは-NH-CO-、-CO-NH-、-CO-CH=CH-、CO-CH=C(OH)-、及び-C(CH₃)=CH-からなる群から選ばれる二価の基を示し；XはCH又はNを示す)で表される化合物；又は、下記の一般式(II)：

【化4】



(式中、R¹¹及びR¹²はそれぞれ独立に水素原子又はC₁₋₆アルキル基を示すが、R¹¹及びR¹²が同時に水素原子であることはなく、R¹¹及びR¹²が隣接する場合にはそれらは互いに結合して、それらが結合するフェニル基上の2個の炭素原子とともに5又は6員環(該5又は6員環は1個又は2個以上のC₁₋₆アルキル基で置換されていてもよい)を形成してもよく；R¹³は水素原子又はC₁₋₆アルキル基を示す)で表される化合物からなる群から選ばれる化合物または生理学的に許容されるその塩を有効成分として含むインターロイキン-6の産生阻害剤を提供するものである。この発明の好ましい態様によれば、インターロイキン-1の刺激に基づくインターロイキン-6の産生を抑制する上記の産生阻害剤が提供される。

【0016】本発明の別の態様によれば、上記の式(I)及び式(II)で表される化合物からなる群から選ばれる化合物または生理学的に許容されるその塩を有効成分として含む、IL-6の産生過多に関連する疾患の予防及び／又は治療に有用な医薬、好ましくは医薬組成物の形態の医薬が提供される。また、本発明のさらに別の態様によれ

ば、上記の医薬の製造のための上記の式(I)及び式(II)で表される化合物からなる群から選ばれる化合物または生理学的に許容されるその塩の使用が提供される。

【0017】

【発明の実施の形態】上記の一般式(I)で表される化合物において、R¹、R²、及びR³はそれぞれ独立に水素原子、C₁₋₆アルキル基、3個の独立のC₁₋₆アルキル基で置換されたシリル基、C₁₋₆アルコキシ基、水酸基、又は置換基を有することもあるアダマンチル基を示す。C₁₋₆アルキル基としては直鎖または分枝鎖のいずれを用いてもよい。例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基などを用いることができるが、イソプロピル基、イソブチル基、tert-ブチル基など嵩高いアルキル基を用いることが好ましい。3個の独立のC₁₋₆アルキル基で置換されたシリル基としては、例えば、トリメチルシリル基、モノエチルジメチルシリル基などを用いることができる。C₁₋₆アルコキシ基としては、例えば、メトキシ基、エトキシ基、n-プロポキシ基、イソプロポキシ基、n-ブトキシ基、sec-ブトキシ基、イソブトキシ基、tert-ブトキシ基などを用いることができる。アダマンチル基は無置換であってもよいが、1個又は2個以上のC₁₋₄アルキル基を有していてもよい。

【0018】R¹、R²、及びR³から選ばれる2つの隣接した基は互いに結合して、それらが結合するフェニル基上の2個の炭素原子とともに5又は6員環を形成してもよい。また、その環上には1個又は2個以上のC₁₋₆アルキル基が置換していてもよく、例えば、2〜4個のメチル基、好ましくは4個のメチル基が置換していてもよい。例えば、R¹及びR²が結合するフェニル環上の2個の炭素原子とR¹及びR²とにより、5,6,7,8-テトラヒドロナフタレン環や5,5,8,8-テトラメチル-5,6,7,8-テトラヒドロナフタレン環などが形成されることが好ましい。Yは-NH-CO-、-CO-NH-、-CO-CH=CH-、CO-CH=C(OH)-、及び-C(CH₃)=CH-からなる群から選ばれる二価の基を示し(式中、右側の結合はXを含むアリール環に結合する)、XはCH又はNを示す。

【0019】上記の式(II)で表される化合物において、R¹¹及びR¹²はそれぞれ独立に水素原子又はC₁₋₆アルキル基を示す。C₁₋₆アルキル基としては直鎖または分枝鎖のいずれを用いてもよい。例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基などを用いることができるが、イソプロピル基、イソブチル基、tert-ブチル基など嵩高いアルキル基を用いることが好ましい。R¹¹及びR¹²が隣接する場合にはそれらは互いに結合して、それらが結合するフェニル基上の2個の炭素原子とともに5又は6員環を形成してもよい。このような態様は式(II)で表される化合物の好適な態様である。この場合、R¹¹及びR¹²により形成される環には、1個又

は2個以上のC₁₋₆アルキル基が置換していてもよく、例えば、2～4個のメチル基、好ましくは4個のメチル基が置換していてもよい。例えば、R¹¹及びR¹²が結合するフェニル環上の2個の炭素原子とR¹¹及びR¹²により、5,6,7,8-テトラヒドロナフタレン環や5,5,8,8-テトラメチル-5,6,7,8-テトラヒドロナフタレン環などが形成されることが好ましい。

【0020】R¹³は水素原子又はC₁₋₆アルキル基を示すが、C₁₋₆アルキル基であることが好ましい。C₁₋₆アルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、sec-ブチル基、イソブチル基、tert-ブチル基などを用いることができるが、メチル基やエチル基が好適であり、メチル基がより好ましい。

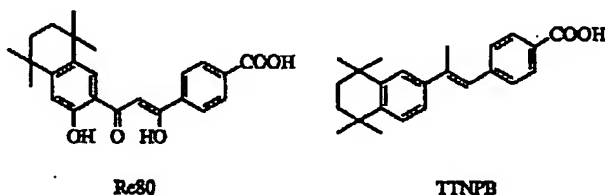
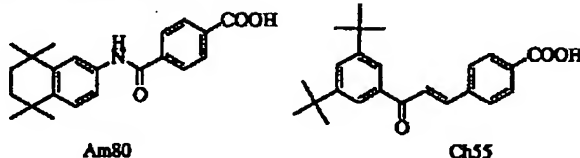
【0021】本発明のインターロイキン-6産生阻害剤の有効成分としては、上記の式(I)又は式(II)で表される化合物から選ばれる1種又は2種以上の化合物を用いることができる。上記の化合物は遊離形態であってもよいが、生理学的に許容される塩基付加塩の形態であってもよい。例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、マグネシウ

ム塩、若しくはカルシウム塩などの金属塩、アンモニウム塩、又はトリエチルアミン塩若しくはエタノールアミン塩などの有機アミン塩などを用いることができる。また、上記の化合物が1個又は2個以上の不斉炭素を有する場合には、このような不斉炭素に基づく任意の光学異性体、光学異性体の任意の混合物、ラセミ体、2個以上の不斉炭素に基づくジアステレオ異性体、ジアステレオ異性体の任意の混合物などを有効成分として用いてもよい。また、遊離化合物又は塩の形態の化合物の任意の水和物又は溶媒和物を有効成分として用いることも可能である。

【0022】本発明のインターロイキン-6産生阻害剤の有効成分として特に好適な化合物を以下に例示するが、本発明の阻害剤の有効成分は下記の化合物に限定されることはない。これらのうち、4-[(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-2-naphthalenyl)carbamoyl]benzoic acid (Am80) は特に好ましい化合物である。

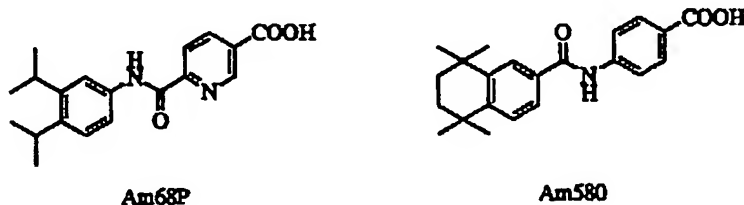
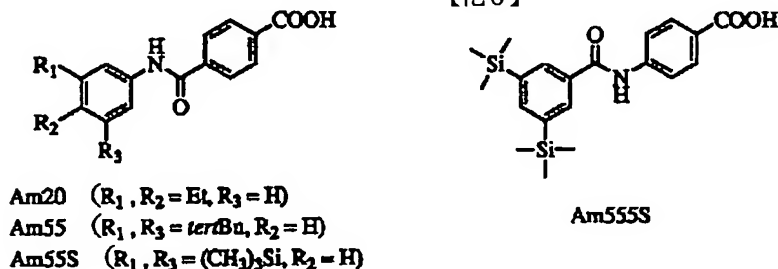
【0023】

【化5】



【0024】

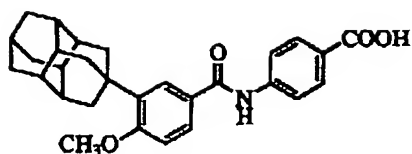
【化6】



【0025】

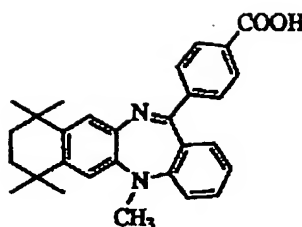
【化7】

9



TD550

10



LE135

【0026】本発明のインターロイキン-6産生阻害剤は、インターロイキン-6の産生過多に関連する各種の疾患の予防及び／又は治療に有用な医薬として用いることができる。インターロイキン-6の産生過多に関連する疾患としては、インターロイキン-6の産生過多に起因する疾患、およびインターロイキン-6の産生過多を伴う疾患などを挙げることができる。より具体的には、例えば、B細胞異常症、自己免疫疾患、心房内粘液腫、Castleman病、慢性関節リウマチ、後天性免疫不全症(AIDS)、メサングウム腎炎、乾癬、慢性膿胸、濾胞性胃炎、Sjogren症候群、多発性骨髄腫などを挙げることができる。本発明の医薬は、特にインターロイキン-1の刺激に基づくインターロイキン-6の産生を顕著に抑制することができるという特徴を有しているため、インターロイキン-1の関与が示唆ないし証明された疾患、例えば動脈硬化症も、本発明の医薬の特に好適な適用対象である。

【0027】本発明の医薬は、上記の有効成分の化合物それ自体を投与してもよいが、好ましくは、当業者に周知の方法によって製造可能な経口用あるいは非経口用の医薬組成物として投与することが好ましい。経口投与に適する医薬用組成物としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、液剤、及びシロップ剤等を挙げることができ、非経口投与に適する医薬組成物としては、例えば、注射剤、坐剤、吸入剤、点眼剤、点鼻剤、軟膏剤、クリーム剤、及び貼付剤等を挙げることができる。

【0028】上記の医薬組成物は、薬理学的、製剤学的に許容しうる添加物を加えて製造することができる。薬理学的、製剤学的に許容しうる添加物の例としては、例えば、賦形剤、崩壊剤ないし崩壊補助剤、結合剤、滑沢剤、コーティング剤、色素、希釈剤、基剤、溶解剤ないし溶解補助剤、等張化剤、pH調節剤、安定化剤、噴射剤、及び粘着剤等を挙げることができる。本発明の医薬の投与量は特に限定されず、患者の体重や年齢、疾患の種類や症状、投与経路など通常考慮すべき種々の要因に応じて、適宜増減することができる。例えば、経口投与の場合には成人一日あたり0.01~1,000 mg程度の範囲で用いることができる。なお、本発明のインターロイキン-6産生阻害剤の用途は医薬に限定されることはなく、生化学用の試薬や臨床検査用試薬として用いることも可能である。

【0029】

【実施例】以下、本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明の範囲は下記の実施例の範囲に限定されることはない。なお、実施例中の化合物番号は、上記に好ましい例として具体的に示した化合物名(例えばAm80など)に対応させてある。

例1: マウス骨原性線維芽細胞株 MC3T3-E1 における本発明の医薬の作用

＜材料及び方法＞レチノイン酸(all-trans-retinoic acid)、レチノイド拮抗物質であるTD550及びLE135は文献記載の方法で製造した(Kagechika, H. et al., J. Med. Chem., 31, pp.2182-2192, 1988; Kagechika, H. et al., J. Med. Chem., 32, pp.834-840, 1989; Kagechika, H. et al., J. Med. Chem., 32, pp.1098-1108, 1989; Yamakawa, T. et al., J. Med. Chem., 33, pp.1430-1437, 1990; Kaneko, S. et al., Med. Chem. Res., 1, pp.220-225, 1991; Eyrolles, L. et al., J. Med. Chem., 37, pp.1508-1517, 1994)。マウスIL-1 α はゲンザイム社(Genzyme Co.)から入手した。マウス骨原性線維芽細胞株 MC3T3-E1(Sudo, H. et al., J. Cell Biol. 96, 191-198, 1983)は、Kodama(東北歯科大学第二解剖学科)により確立されたものを用いた。細胞をプラスチックフラスコ中で5% CO₂の加湿下に37℃で培養した。培地としては、10% ウシ胎児血清(FBS)及び抗生物質(ペニシリンG及びストレプトマイシン)を添加した改良イーグル最少必須培地(MEM、フロー・ラボラトリー)を用いた。

【0030】IL-6産生アッセイ: MC3T3-E1細胞(1.2 × 10⁵細胞/mL 懸濁液 0.5 mL)を24-ウェルプレート(各ウェルにまき、CO₂インキュベーター中、37℃で24時間インキュベートした。培地を5% FBS(DCC処理)を添加したRPMI1640(フェノールレッドを含有せず)に交換した。24時間後、マウスIL-1 α 及び／又は試験化合物(エタノール溶液)を細胞に加えた。対照細胞には同量のエタノールのみを与えた。細胞を24時間インキュベートし、IL-6産生を市販のELISAキット(アマシャム社)を用いて調べた。

【0031】拮抗的結合アッセイ: RAR α 及びRAR β に対する結合活性はエイロールスらの方法(Eyrolles, L. et al., J. Med. Chem., 37, pp.1508-1517, 1994)を用いて、ニトロセルロースフィルター結合アッセイ法により評価した。組換えレセプターはマルトース結合性蛋白(MBP)のRAR α 及び β のリガンド結合性ドメインとの

融合蛋白として製造した。拮抗的結合アッセイは以下のように行った。組換えレセプター (2-3 μg /アッセイ) を結合アッセイバッファー (20 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.15 M NaCl, 1 mM EDTA, 10 mM 2ME, 0.2 mM PMSF) で希釈し、4℃で10-16時間、非ラベル化拮抗物質の存在下又は非存在下で 8 nM [^3H]Am80 (65 Ci/mmol、アマシヤム社製) とともにインキュベートした。

【0032】反応液を吸引してニトロセルロースメンブレン上に吸着させた。このメンブレンを洗浄用バッファー (20 mM Tris-HCl, pH 8.0, 0.15 M NaCl) で3回洗浄し、ついで蒸留水で希釈した 25%エタノールで洗浄した。メンブレン上に残存する放射能はシンチレーターとしてアトムライト (Atomlight, NEN社) を用いて液体シンチレーションカウンターで測定した。IC₅₀ 値は [^3H]Am80 の特異的結合を 50%減少させるのに必要な拮抗化合物の濃度と定義した。化合物の K_i 値は以下の式によって計算した: $K_i = \text{IC}_{50} / (1 + [\text{L}]/K_d)$, 式中 [L] は [^3H]Am80 の濃度 (8 nM) を示し、K_d はスキッチャード分析で測定した Am80 の解離定数である (RAR α では 5.45×10^{-9} M、RAR β では 3.3×10^{-8} M) (Cheng, Y.C. et al., Biochem. Pharmacol., 22, pp.3099-3108, 1973)。

【0033】<結果>10 pg/mLのマウス IL-1 α によって誘導される IL-6 産生は、レチノイン酸により強く阻害され、IL-6産生量は 10^{-9} 、 10^{-8} 、及び 10^{-7} Mの濃度のレチノイン酸によってそれぞれ 46%、26% 及び 9% に減少した ($p < 0.01$)。また、Am80 (4-[(5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethyl-2-naphthalenyl)carbamoyl]benzoic acid) IL-1 α 誘導による IL-6 産生を容量依存的に阻害した。Am80の作用はレチノイン酸よりも若干強かったが、IC₅₀ 値はともに約 2×10^{-9} M であった。100 pg 30

/mL の IL-1 α を用いて刺激した場合には、 10^{-9} 、 10^{-8} 、及び 10^{-7} MのAm80によって IL-6 産生は同様にそれぞれ 63%、44% 及び 19%に減少した ($p < 0.01$)。細胞生存データから、レチノイン酸及び Am80 のこれらの作用が細胞毒性の結果として現れるものではないことが確認された。

【0034】異なる骨格を有する他の合成レチノイド Ch55、Re80、及び TINPBについても、IL-1 α 誘導による IL-6産生の用量依存的な抑制が認められた。Ch55及びRe80はレチノイン酸及びAm80よりも強い活性を示した。これらのレチノイドの IL-6産生の阻害活性の順は、Ch55 \geq Re80 \geq Am80 \geq レチノイン酸 \geq TINPB であった。この活性の強弱は、これらのレチノイドのヒト前骨髄球白血病細胞 HL-60に対する分化誘導活性や他のレチノイド活性によく相関していた (Kagechika, H. et al., J. Med. Chem., 31, pp.2182-2192, 1988; Kagechika, H. et al., J. Med. Chem., 32, pp.834-840, 1989; Kagechika, H. et al., J. Med. Chem., 32, pp.1098-1108, 1989; Yamakawa, T. et al., J. Med. Chem., 33, pp.1430-1437, 1990)。IL-6産生の阻害活性を図1に示した。

【0035】IL-6産生阻害作用とRAR に対する親和力との相関を知る目的で、下記表の化合物について IL-6産生アッセイを行った。アッセイの結果を [^3H]Am80 を用いた拮抗的結合アッセイの結果から推定された RAR α 及び RAR β に対する結合親和力 (K_i 値: Eyrolles, L. et al., J. Med. Chem., 37, pp.1508-1517, 1994) と共に表1に示す (表中、* は $p < 0.01$ を示す)。

【0036】

【表1】

レチノイド	IL-6産生 (コントロールに対するパーセント値)					RAR結合親和性 (K _i , nm)	
	10^{-10}	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	RAR α	RAR β
レチノイン酸		46 \pm 12*	26 \pm 8*	9 \pm 3*			
Am80	98 \pm 17	50 \pm 7*	16 \pm 8*	4 \pm 1*		3.9	30
Am20			93 \pm 20	88 \pm 25	65 \pm 20	200	4800
Am55			57 \pm 8*	42 \pm 22*	23 \pm 21*	54	510
Am55S			60 \pm 4*	46 \pm 15*	28 \pm 7	61	290
Am68P		70 \pm 15	38 \pm 24*	24 \pm 17*		75	16
Am555S		79 \pm 10	46 \pm 7*	36 \pm 4*		2.4	400
Am580	54 \pm 6*	29 \pm 11*	22 \pm 14*	19 \pm 13*		0.95	21

【0037】表1の結果から明らかなように、2個のエチル基を持つAm20は 10^{-6} Mではごく弱い阻害しか示さなかったが、それぞれより高い tert-ブチル基及びイソプロピル基を有する Am55 及び Am68Pは 10^{-8} Mより低い濃度でも IL-6産生に明らかな阻害を示した。アルキル基の代わりにトリメチルシリル基を用いても阻害作用は保 50

持されており、Am580 はその異性体であるAm20と同程度の活性を有していた。Am68P 及びAm555Sの間には IL-6産生阻害に対する活性の有意の差は認められなかった。

【0038】レチノイドに対する受容体が細胞内 (CRABP、細胞性レチノイン酸結合蛋白) 及び核内 (RAR:レチノイン酸レセプター、及び RXR:レチノイドX レセプター

一)に存在することが知られている。Ch55は細胞性受容体であるCRABPには結合できないことから(Jettorn, A. M. et al., Cancer Res., 47, pp.3523-3527, 1987; Takagi, K., et al., J. Cancer Res. Clin. Oncol., 114, pp.221-224, 1988)、核受容体がIL-6産生の調節作用を含むレチノイド様作用において重要であることが示唆された。また、Am80及びAm580はRARの3つのサブタイプのうちRAR β よりもRAR α の方に選択的に結合するが、RAR γ には結合しない(Hashimoto, Y. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 166, pp.1300-1307, 1990; Hashimoto, Y. et al., Biol. Pharm. Bull., 19, pp.1322-1328, 1996)。この事実からRAR α 及び/又はRAR β への結合及び活性化がIL-6産生阻害に重要であることが示唆された。

【0039】これらの2つのサブタイプ受容体の間の選択性は芳香族アミドの誘導体の場合に一層顕著である

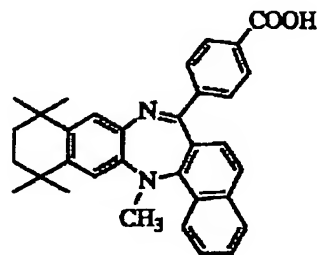
(表1, Hashimoto, Y., Biol. Pharm. Bull., 19, pp.1322-1328, 1996)。すなわちAm555SはAm80と同等のRAR α 親和性を有するが、RAR β に対する親和力はAm80よりも1桁低い。またAm555SはRAR α に高い選択性を有するが、ピリジンカルボン酸であるAm68PはRAR α よりもRAR β に対する親和性が高い(Am555SのRAR α 選択性はAm68Pの約800倍になる)。これら2つのレチノイドがIL-6産生阻害作用においてほぼ同等の活性を有していることは、RARサブタイプのどちらかがレチノイドによって活性化されればIL-6産生阻害に十分であることを示している。

【0040】レチノイドに対して拮抗的に作用する物質(レチノイド・アンタゴニスト)のIL-6産生に及ぼす作用を検討した。TD550及びLE135[4-(5H-7,8,9,10-テトラヒドロ-5,7,7,10,10-ペンタメチルベンゾ[e]ナフト[2,3-b][1,4]ジアゼピン-13-イル)安息香酸]はRAR α 及びRAR β の両方に対して結合することができるが、HL-60細胞におけるレチノイン酸又はAm80の分化誘導活性を阻害することが知られている(Kaneko, S. et al., Med. Chem. Res., 1, pp.220-225, 1991; Eyrolle, L. et al., J. Med. Chem., 37, pp.1508-1517, 1994)。LE540はHL-60を用いた分化誘導実験においてLE135よりも強いレチノイド拮抗作用を有している(LE540: 4-(13H-10,11,12,13-テトラヒドロ-10,10,13,13,15-

ペンタメチルジナフト[2,3-b][1,2-e][1,4]ジアゼピン-7-イル)安息香酸;特願平7-255912号明細書参照)。

【0041】

【化8】



LE540

【0042】TD550及びLE135は 10^{-7} M以上の濃度でマウスIL-1 α 誘導によるIL-6産生に対して弱い抑制を示したが、抑制の程度は弱いレチノイドアンタゴニストAm20と同等であった。これらの2つの化合物とは対照的に、LE540はIL-1 α 誘導によるIL-6産生を促進し、 10^{-7} 及び 10^{-6} Mの濃度においてIL-6産生を対照と比較してそれぞれ167%及び230%に増加させた($p < 0.01$)。結果を図2に示す。レチノイドアンタゴニストは核受容体に結合するが、それらを活性化することはないと考えられている。3種のレチノイドアンタゴニストのうちの1つが他の2つとは全く正反対の作用を示したことから、IL-6産生調節におけるレチノイド-RAR複合体又はレチノイドアンタゴニスト-RAR複合体の挙動が転写調節作用の場合におけるそれぞれの複合体の挙動とは相違していることが示唆された。

【0043】

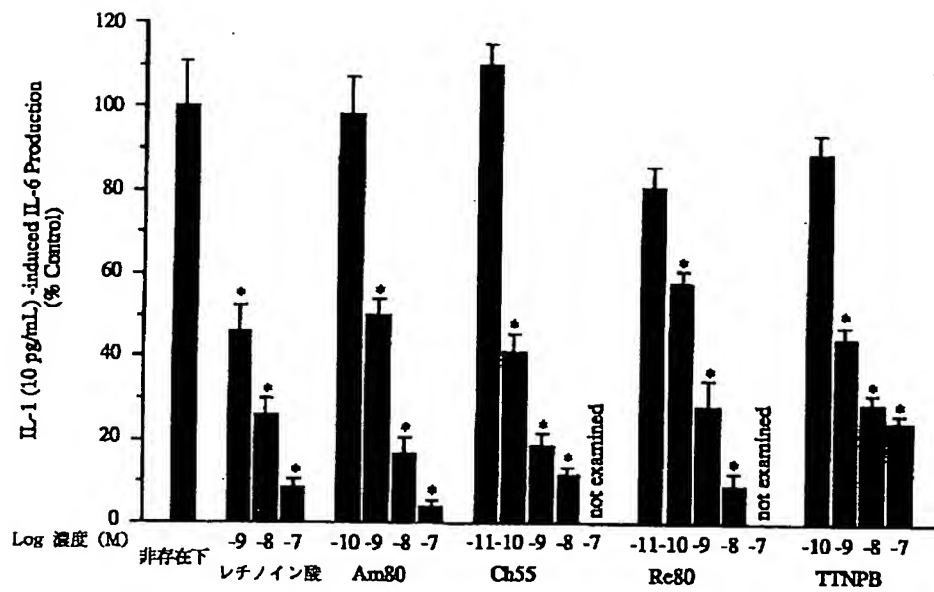
【発明の効果】本発明のIL-6産生阻害剤は、IL-6の産生過多に関連する各種の疾患の予防及び/又は治療のための医薬として有用である。

【図面の簡単な説明】

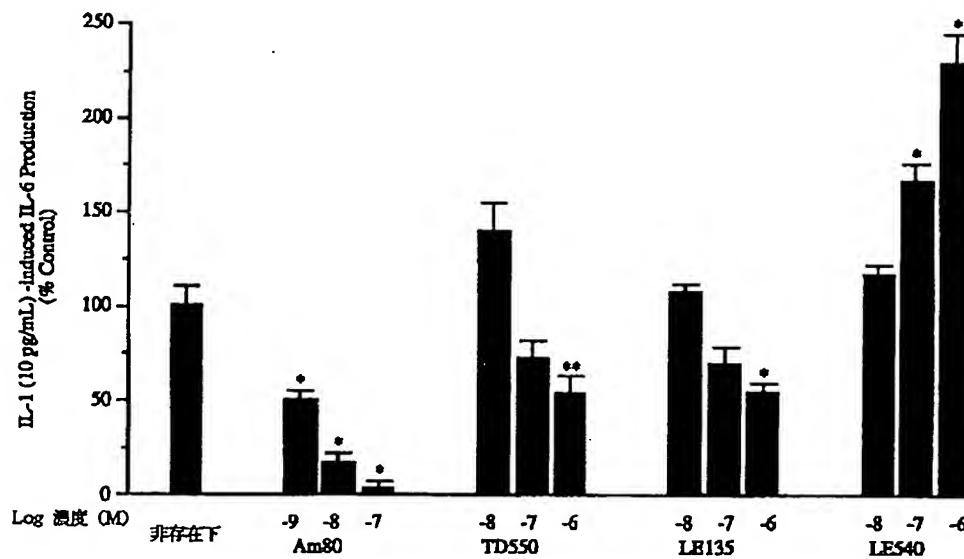
【図1】本発明の医薬のIL-6産生阻害作用を示した図である。図中、*印は被験化合物の非存在下で得られた結果と比較して $p < 0.01$ であることを示す。

【図2】各種レチノイドアンタゴニストのIL-6産生に及ぼす作用を示した図である。図中、*印は被験化合物の非存在下で得られた結果と比較して $p < 0.01$ であることを示す。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

(51) Int.C1.⁶

識別記号

F I

A 6 1 K 31/19
 31/195
 31/44
 31/55
 31/695

A D Y
 A C V
 A B A
 A B G
 A D A

A 6 1 K 31/19
 31/195
 31/44
 31/55
 31/695

A D Y
 A C V
 A B A
 A B G
 A D A

// C 0 7 D 243/38

C 0 7 D 243/38